


 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

|   |           |   |
|---|-----------|---|
| <b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :</b><br><br><b>G01N 30/46, B01D 15/08</b>   | <b>A1</b> | <b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> <b>WO 00/31528</b><br><br><b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 2. Juni 2000 (02.06.00)   |
| <b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP99/09747<br><br><b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 22. November 1999 (22.11.99)<br><br><b>(30) Prioritätsdaten:</b><br>198 55 001.4      20. November 1998 (20.11.98)      DE<br>299 10 725.6      14. Juni 1999 (14.06.99)      DE<br><br><b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> AN-ALYTICON AG [DE/DE]; Biotechnologie Pharmazie, Tegeler Weg 33, D-10589 Berlin (DE).<br><br><b>(72) Erfinder; und</b><br><b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> MÜLLER-KUHRT, Lutz [DE/DE]; Wublitzweg 12a, D-14089 Berlin (DE). GOD, Ralf [DE/DE]; Seehofstrasse 52 D-14167 Berlin (DE). GUMM, Holger [DE/DE]; Schönbaumer Weg 12, D-13503 Berlin (DE). BINKELE, Jörg [DE/DE]; Hebbelstrasse 41, D-14469 Potsdam (DE).<br><br><b>(74) Anwälte:</b> GULDE, Klaus, W. usw.; Gulde Hengelhaupt Ziebig, Schützenstrasse 15-17, D-10117 Berlin (DE). |           | <b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).<br><br><b>Veröffentlicht</b><br><i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i><br><i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i> |

**(54) Title:** DEVICE AND METHOD FOR THE PARALLEL SEPARATION OF SUBSTANCES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY

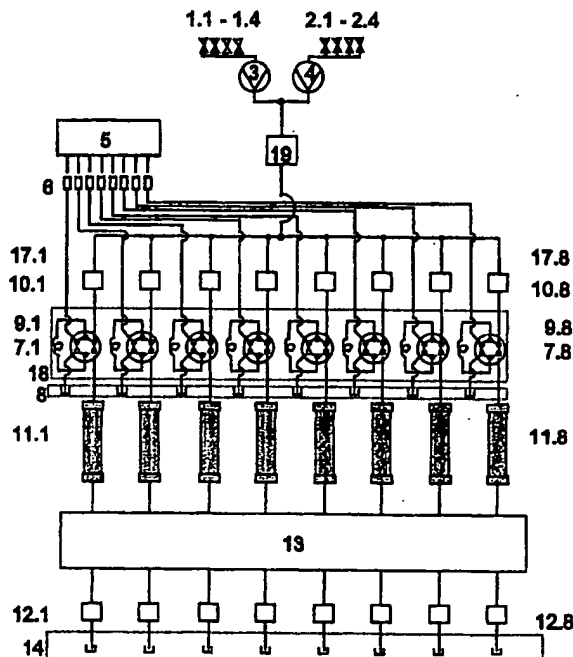
**(54) Bezeichnung:** VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR PARALLELEN FLÜSSIGCHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG VON SUBSTANZEN

**(57) Abstract**

The invention relates to a device and a method for separating substances by liquid chromatography. The aim of the invention is to provide a device and a method by which means substances can be separated by liquid chromatography under pressure and which enable parallel separation and detection of at least several samples. The device should have a compact, economical construction. To this end, the inventive device for separating substances by liquid chromatography under pressure is characterised in that at least several liquid chromatography separating lines (17) are supplied by a single delivery unit (one or two pumps), said separating lines being arranged so that they run parallel, and in that said separating lines are combined with a sample-loading system (5) and an injection system (18) in the sample introduction area and with a multi-channel detector (13), connected to an evaluation and control unit (16), in the detection area.

**(57) Zusammenfassung**

Die Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung unter Druck anzubieten, mit denen eine parallele Auftrennung und Detektion von mindestens mehreren Proben möglich ist, wobei die Vorrichtung eine kompakte, kostensparende Konstruktion aufweisen soll. Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit einer Vorrichtung zur flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen unter Druck, die dadurch gekennzeichnet ist, daß mindestens mehrere parallel verlaufend angeordnete flüssigchromatographische Trennungslinien (17) von einer einzigen Fördereinheit (eine oder zwei Pumpen) versorgt werden und im Bereich der Probenzuführung mit einem Probenaufgabensystem (5) und einem Injektionssystem (18) und im Detektionsbereich mit einem Multikanal-detektor (13), verbunden mit einer Auswerte- u. Steuereinheit (16), kombiniert sind.



# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

|    |                              |    |                                   |    |   |    |                                |
|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|---|----|--------------------------------|
| AL | Albanien                     | ES | Spanien                           | LS | Lesotho   | SI | Slowenien                      |
| AM | Armenien                     | FI | Finnland                          | LT | Litauen   | SK | Slowakei                       |
| AT | Österreich                   | FR | Frankreich                        | LU | Luxemburg                                       | SN | Senegal                        |
| AU | Australien                   | GA | Gabun                             | LV | Lettland  | SZ | Swasiland                      |
| AZ | Aserbaidshan                 | GB | Vereinigtes Königreich            | MC | Monaco  | TD | Tschad                         |
| BA | Bosnien-Herzegowina          | GE | Georgien                          | MD | Republik Moldau                                 | TG | Togo                           |
| BB | Barbados                     | GH | Ghana                             | MG | Madagaskar                                      | TJ | Tadschikistan                  |
| BE | Belgien                      | GN | Guinea                            | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan                   |
| BF | Burkina Faso                 | GR | Griechenland                      | ML | Mali  | TR | Türkei                         |
| BG | Bulgarien                    | HU | Ungarn                            | MN | Mongolei  | TT | Trinidad und Tobago            |
| BJ | Benin                        | IE | Irland                            | MR | Mauretanien                                     | UA | Ukraine                        |
| BR | Brasilien                    | IL | Israel                            | MW | Malawi  | UG | Uganda                         |
| BY | Belarus                      | IS | Island                            | MX | Mexiko  | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada                       | IT | Italien                           | NE | Niger   | UZ | Usbekistan                     |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan                             | NL | Niederlande                                     | VN | Vietnam                        |
| CG | Kongo                        | KE | Kenia                             | NO | Norwegen  | YU | Jugoslawien                    |
| CH | Schweiz                      | KG | Kirgisistan                       | NZ | Neuseeland                                      | ZW | Zimbabwe                       |
| CI | Côte d'Ivoire                | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen   |    |                                |
| CM | Kamerun                      | KR | Republik Korea                    | PT | Portugal  |    |                                |
| CN | China                        | KZ | Kasachstan                        | RO | Rumänien  |    |                                |
| CU | Kuba                         | LC | St. Lucia                         | RU | Russische Föderation                            |    |                                |
| CZ | Tschechische Republik        | LI | Liechtenstein                     | SD | Sudan   |    |                                |
| DE | Deutschland                  | LK | Sri Lanka                         | SE | Schweden  |    |                                |
| DK | Dänemark                     | LR | Liberia                           | SG | Singapur  |    |                                |
| EE | Estland                      |    |                                   |    |   |    |                                |

5

---

Vorrichtung und Verfahren zur parallelen flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen

---

10

**Beschreibung**

15

Die Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen unter Druck gemäß den Oberbegriffen der Ansprüche 1 und 19.

20

25

30

35

Zur präparativen und analytischen Trennung von Substanzgemischen werden sog. chromatographische Trennanlagen verwendet. Diese bestehen im wesentlichen aus jeweils einer Fördereinheit (Pumpe), einem Injektionssystem, der eigentlichen Trennvorrichtung (Säule) und einem Detektor. Die Auftrennung von aus organischen Bestandteilen bestehenden Stoffgemischen wird derzeit durch die Hochdruckflüssigchromatographie dominiert. Die Gründe sind im wesentlichen in der Anwendungsbreite und Universalität sowie der Robustheit und Anwenderfreundlichkeit der Methode zu sehen. Mittels der Hochdruckflüssigchromatographie ist es möglich, praktisch jedes organische Substanzgemisch aufzutrennen und zu detektieren. Neben der Analyse von Einzelproben, bei der die Trennparameter optimal und entsprechend variierbar sein sollen, müssen mit zunehmender Tendenz in

vielen Bereichen große Probenserien unter exakt den gleichen Bedingungen analysiert oder aufgereinigt werden. Dabei ist vor allem für den analytischen Bedarf häufig eine exakte Vergleichbarkeit der Chromatogramme und eine eindeutige Identifikation von getrennten Substanzen anhand der Retentionszeiten im Chromatogramm erforderlich. Nicht zu vermeidende Unterschiede in der Art der Befüllung der Chromatographiesäulen mit stationären Phasenmaterial, z. B. in der Füllhöhe oder in der Packungsdichte, können jedoch zu unterschiedlichen Retentionszeiten führen, so daß eine exakte Vergleichbarkeit der Chromatogramme nicht mehr gegeben ist.

Bisher werden für analytische und präparative Zwecke jeweils einzelne chromatographische Trennanlagen für die Trennung einzelner Substanzgemische verwendet. Die Suche nach pharmazeutisch verwertbaren Naturstoffen und die Synthese ganzer Substanzbibliotheken mittels kombinatorischer Chemie hat in neuerer Zeit allerdings zu erhöhten Anforderungen an den Probendurchsatz bei flüssigchromatographischen Anlagen geführt.

So ist es bekannterweise möglich, über serielle Analysen oder Aufreinigung von Proben, Probenserien nacheinander zu bearbeiten. Dieses Vorgehen jedoch ist sehr zeitaufwendig und führt zu langen Zeiträumen zwischen der Prozessierung der ersten und der letzten Probe. Nachteiligerweise kann bei der Durchführung der flüssigchromatographischen Trennungen über längere Zeiträume die Konstanz der Bedingungen nicht garantiert werden, da sich unter anderem Proben, Säulenmaterialien und Lösungsmittel verändern.

Um eine große Zahl von Proben zu analysieren (sog. „high throughput screening“), ist es deshalb wünschenswert, eine größere Zahl von Trennungen gleichzeitig

durchführen zu können. Derzeitige parallelisierte Trennanlagen benötigen je eine Fördereinrichtung pro Trennvorrichtung (Säule). Dies ist jedoch in der Regel unökonomisch. Darüberhinaus zeigen solche Mehrkanalanlagen in den einzelnen Förderlinien voneinander abweichende Retentionszeiten.

Es sind Hochdruckchromatographieanlagen bekannt, bei denen mit insgesamt sieben Pumpen, einem Säulenkarussell mit sechzehn Säulen, vier einzelnen Detektoren und einem Fraktionssammler maximal vier Proben parallel bearbeitet werden können (Laborpraxis, Dezember 1967, Seite 61-63). Hinzu kommt, daß aufgrund ihrer aufwendigen Konstruktion im Vergleich zu der geringen zu bearbeitenden Probenzahl ein ökonomisches Arbeiten nicht gestattet ist.

Eine weitere Anlage ist bekannt, mit der sich maximal ebenfalls vier Proben parallel bearbeiten lassen (Laboratory Automation News, Vol. 2, No. 2, Mai 1997). Hier betreiben vier Pumpen vier Säulen. Substanzen werden in einem UV-Detektor, der eine Deuteriumlampe und vier Flusszellen aufweist, bei nur zwei vor der Analyse einstellbaren Wellenlängen detektiert. Die Peakerkennung im Detektor schaltet vier Fraktionssammler. Im Prinzip werden hier im wesentlichen mehrere Hochdruckflüssigchromatographiegeräte parallel eingesetzt. Das ist nachteiligerweise unökonomisch.

Eine wesentliche Steigerung der Zahl der Förderlinien ist erreichbar, wenn mehrere Kanäle im Parallelbetrieb von einer einzigen konstant fördernden Pumpe (bzw. Pumpensystem) versorgt werden und eine seitens des Anwenders vorgegebene Flussverteilung entsteht.

Ein einfache, unregelmäßige Parallelschaltung mehrerer Trennsäulen, die durch eine einzige Pumpe versorgt werden, führt jedoch aufgrund der unterschiedlichen Strömungsverhältnisse in den einzelnen Säulen zu einer Flussverteilung, die nur sehr schwer vorhersehbar ist. Jede Säule muß vor Inbetriebnahme strömungstechnisch vermessen werden und einen Strömungswiderstandskennwert erhalten.

Analog zu einem parallelen Widerstandsnetzwerk in der Elektrotechnik würde man mit einem solchen Kennwert auch hier eine entsprechende Verteilung des Volumensstromes erwarten können. Dieses Verfahren der Flusseinstellung im parallelen Betrieb ist in der Praxis unbrauchbar, da es keinerlei zeitliche Veränderungen (z.B. Alterungs- u. Verstopfungsprozesse im Säulenmaterial) berücksichtigt.

In DE 195 45 423 A1 ist eine Vorrichtung beschrieben, mit der bis zu zweiundsiebzig parallele Trennungen möglich sein sollen. Die Vorrichtung basiert auf zwei miteinander verbundenen kreis- und scheibenförmigen Trennphasen. Der Strom der mobilen Phase kehrt sich bei dieser Vorrichtung um. Für parallele Messungen sollen diese Scheiben mit undurchlässigen Trennwänden versehen sein. Die Detektion soll in einem nicht näher beschriebenen Vielkanaldetektor erfolgen. Die Trennphase wird über zwei Pumpen und einem Ventilbaum mit mobiler Phase und Proben versorgt. Diese Vorrichtung weist zwei kritische Punkte auf:

- Es wird nicht näher beschrieben, wie die Flüsse in den verschiedenen Kanälen bei parallelem Betrieb der Trennsäulen geregelt werden sollen. Verstopft beispielsweise ein Kanal, so würde sich in der darge-

stellten Vorrichtung ohne Regelung automatisch der Fluss in den anderen Kanälen erhöhen.

- Ebenso ist es fraglich, ob sich die Trennwände auf den Scheiben bei höheren Drücken noch als dicht erweisen. Eine Vermischung verschiedener Proben kann deshalb hier nicht ausgeschlossen werden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung unter Druck anzubieten, mit denen eine parallele Auftrennung und Detektion sowie eine Aufreinigung, wenn erforderlich, von mindestens mehreren Proben möglich ist, wobei die Vorrichtung eine kompakte, kostensparende Konstruktion aufweisen soll.

Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit den kennzeichnenden Teilen der Ansprüche 1 und 6.

Vorteilhafte Weiterbildungen sind in den Unteransprüchen aufgeführt.

Die Erfindung weist verschiedene Vorteile auf. Pro Zeiteinheit können bedeutend mehr Proben parallel getrennt, analysiert und aufgereinigt werden. In der gleichen Zeit, in der eine herkömmliche Hochdruckflüssigchromatographieanlage nur eine Probe oder eine der oben beschriebenen Parallelchromatographievorrichtungen vier Proben auftrennen, kann die erfindungsgemäße Vorrichtung fünf oder bedeutend mehr Proben auftrennen, analysieren und aufreinigen. Vorteilhafterweise ist bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung jede Trennungslinie einschließlich der Trennsäulen physikalisch von der anderen getrennt, so daß eine Vermischung der Proben nicht stattfinden kann. Für den Betrieb mit Niederdruckgradient werden selbst bei einem Parallelbetrieb von wesentlich mehr als fünf Trennsäulen nur eine Pumpe

oder für den Hochdruckgradienten maximal zwei Pumpen und für das Betreiben der Festphasenextraktionseinheit ebenfalls nur zwei Pumpen benötigt. Dies spart Raum und Kosten. Da für die Probeninjektion Mehrwegventile parallel geschaltet werden, wird nur eine Ventilsteuerung benötigt. Eine solche parallel betriebene Chromatographievorrichtung kann günstigerweise mit einem einzelnen Multikanaldetektor, anstelle von vielen einzelnen Detektoren ausgestattet werden. Schließlich sind die Chromatogramme der einzelnen Trennungslinien durch den Einbau einer kalibrierbaren Flussregelung absolut miteinander vergleichbar.

Die Erfindung wird anhand von Zeichnungen und Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Es zeigen

Fig. 1A ein Ablaufschema mit acht Trennungslinien sowie einer Anordnungsvariante der Flussregelungseinheit,

Fig. 1B ein Ablaufschema mit einer weiteren Anordnungsvariante der Flussregelungseinheit,

Fig. 2 ein Diagramm zur Wirkungsweise der Flussregelung und

Fig. 3 eine schematische perspektivische Darstellung der Vorrichtung mit 96 Trennungslinien,

Fig. 4 eine schematische Darstellung der Vorrichtung mit zehn Festphasenextraktionseinheiten, die je sechs Fraktioniersäulen aufweisen und

Fig. 5 eine schematische Darstellung der Vorrichtung mit zwei Fraktioniersäulen für jede Festphasenextraktionseinheit.



Die zu trennenden Proben befinden sich in Probengefä-  
ßen. Gemäß einer bevorzugten Ausführung der Erfindung  
sind dies beispielsweise Mikrotiterplatten 15 in  
5 Fig. 3. Mittels eines multiparallelen Probeaufnahmesy-  
stemes 5, das beispielsweise als Autosampler ausgebil-  
det sein kann, werden gleichzeitig acht Proben aufge-  
nommen und dem Injektionssystem 18 zugeführt, das aus  
Injektionsports 6, Injektionsventilen 9 und Proben-  
10 schleifen 7 besteht (Fig. 1A, 1B). Überflüssiges Pro-  
benmaterial gelangt durch die entsprechende Stellung  
des Injektionsventils 9 in den Probenabfall 8. Sind al-  
le acht Probeaufgabenbeschleifen 7.1 - 7.8 befüllt, werden  
alle Injektionsventile 9.1 - 9.8 gleichzeitig geschal-  
15 tet und auf diese Weise die mit Proben gefüllten Pro-  
benschleifen 7.1 - 7.8 mit den Trennsäulen 11.1 - 11.8  
verbunden, so daß die Proben parallel und gleichzeitig  
auf die Trennsäulen 11.1 - 11.8 aufgegeben werden. Die  
Trennsäulen 11.1 - 11.8 sind in einer Trennsäulenbatte-  
20 rie 11 kompakt angeordnet.

Über die Ventile 1.1 - 1.4 und 2.1 - 2.4 und die Pum-  
pen 3 und 4 wird die mobile Phase über einen Drucksen-  
sor 19, der Teil der Flussregelungseinheit ist, in die  
25 einzelnen Trennungslinien 17.1 - 17.8 gefördert. Es  
kann sowohl ein Niederdruck- als auch ein Hochdruckgra-  
dient gefahren werden. Im Falle der Niederdruckvariante  
wird der Gradient in einer Mischkammer erzeugt und mit  
einer einzigen Pumpe gefördert. Bei Hochdruckgradien-  
30 tenbetrieb (vergl. Fig. 3) werden die Flußmittel  
mittels zweier Pumpen 3 und 4 auf der Hochdruckseite  
zusammengeführt. Die von den Pumpen 3 und / oder 4 ge-  
förderte mobile Phase fließt über die Verteilung 20 zum  
Flussregler 10 und transportiert die Proben gemäß Fig.  
35 1A von den Probeaufgabenbeschleifen 7 auf die jeweilige

Trennsäule 11. In den Trennsäulen 11.1 - 11.8 werden auf an sich bekannte Weise die Komponenten der Proben aufgetrennt.

5 Nach erfolgter Trennung werden die Komponenten in einen Multikanaldetektor 13 geführt. Der Multikanaldetektor 13 kann auf dem Prinzip an sich bekannter Detektionsverfahren, wie z. B. der Ultraviolettabsorption, der  
10 Fluoreszenzspektroskopie, der Lichtstreuung oder der Massendetektion basieren. Für jede der acht Proben nimmt der Multikanaldetektor 13 ein eigenes Chromatogramm bzw. Spektrum auf.

15 Dient die erfindungsgemäße Vorrichtung ausschließlich der analytischen Bestimmung, so werden anschließend die Probenreste und die mobile Phase in einen Abfall 14 überführt.

20 Bei einer präparativen oder semipräparativen Arbeitsweise werden die Proben nach der Trennung gesammelt und weiterverwendet. Dann wird anstelle des Abfalls 14 ein multiparalleler Fraktionssammler 24 installiert. In diesem Fall steuert ein zerstörungsfrei arbeitender Detektor, (z.B. ein multiparalleler Ultraviolettabsorptionsdetektor 13 mit Peakerkennung) den Fraktionssammler,  
25 der die aufgereinigten Komponenten sammelt. Vor dem Fraktionssammler 24 kann zur Aufreinigung der Fraktionen und Überführung der Fraktionen in ein organisches Lösungsmittel eine Festphasenextraktionseinheit 23  
30 installiert sein (s. Fig. 4, 5).

35 Vor allem bei analytischer Zielstellung ist häufig eine exakte Vergleichbarkeit der Chromatogramme zur eindeutigen Identifikation von getrennten Substanzen anhand der Retentionszeiten im Chromatogramm notwendig.

Für diesen Anwendungsfall ist eine Flussregelung unabdingbar.

Die Flussregelungseinheit besteht aus dem Gesamtdrucksensor 19, dem Flussregler 10 und dem Flussmesser 12. In Fig. 1A sind in jeder parallelen Trennungslinie 17.1 - 17.8 Flussregler 10 vor dem Injektionsventil 9 vorgesehen. Flussmesser 12 sind hier beispielhaft nach dem Detektor 13 angeordnet. Der erforderliche Gesamtdruckmesser 19 befindet sich zwischen den Pumpen 3, 4 und der Verteilung 20 auf die einzelnen Trennlinien.

In Fig. 1B ist eine andere beispielhafte Anordnung vorgesehen, in der die Teile Flussregler 10 und Flußmesser 12 der Flussregelungseinheit kompakt vor den Injektionsventil 9 eingefügt sind.

Ein gleicher Fluss in allen Trennsäulen 11.1 - 11.8 garantiert jedoch noch nicht die Ähnlichkeit von Chromatogrammen gleicher Proben. Geringe Unterschiede in der Art der Befüllung der Trennsäulen 11.1 - 11.8 mit stationärem Phasenmaterial, die z.B. auf unterschiedliche Füllhöhe oder Packungsdichte zurückzuführen sind, können zu unterschiedlichen Retentionszeiten für ein- und dieselbe Substanz führen. Da die Flüsse in den einzelnen parallelen Trennlinien 17.1 - 17.8 einzeln regelbar sind, können sie vorteilhafterweise und erfindungsgemäß so eingestellt werden, daß sie die geringen Unterschiede in den Trennsäulen 11.1 - 11.8 ausgleichen. Die Einstellung erfolgt so, daß eine Kalibrierkomponente auf alle Trennsäulen 11.1 - 11.8 aufgegeben wird. Die Messung der unterschiedlichen Retentionszeiten erfolgt über einen Detektor. Nach Messung der Retentionszeiten wird der Fluss für die einzelnen Trennungslinien 17.1 - 17.8 so berechnet und nachgeregelt,

daß sich für die Kalibrierkomponente in allen Trennungslinien 17.1 - 17.8 die gleichen Retentionszeiten ergeben.

- 5 Die beiden Verfahren zur Einstellung eines für den Ausgleich von Retentionszeiten erforderlichen und vorher berechneten Flusses, ist nachfolgend näher erläutert.

Verfahren 1 ( mit druckgeregelter Fördereinheit) :

10

15

Die Flussmesser 12.1 bis 12.8 ermitteln für die jeweilige Trennlinie 17 den Wert des aktuellen Volumenstroms. Der Flussregler 10 vergleicht diesen Istwert mit einem von der Auswerte- u. Steuereinheit 16 vorgegebenen Sollwert und regelt mit der berechneten Regeldifferenz direkt den erforderlichen Volumenstrom für die jeweiligen Trennlinie 17.1 bis 17.8 ein. Neben der Sollwertvorgabe überwacht die Auswerteeinheit (16) auch die Reglerparameter.

20

25

Diese Vorgehensweise zur Einregelung der Volumenströme bei Parallelbetrieb von Trennsäulen ist bei einer Versorgung mit druckgeregelten HPLC- Pumpen möglich. Diese Versorgung mit mobiler Phase wird selten eingesetzt. Die Schwierigkeit in der Auswahl eines geeigneten Vor-

30

druckes, der abhängig von der nachfolgenden Säulenbatterie ist, macht sich hierbei bemerkbar.

In der Hochdruckflüssigchromatographie werden i. A. Pumpen mit konstanter Volumenstromförderung eingesetzt.

Hierzu Verfahren 2 (mit volumenstromgeregelter Fördereinheit) :

Die Einregelung der Volumenströme erfolgt bei Konstant-  
volumenstromversorgung nach einem speziellen Verfahren.  
Das o. g. Verfahren erlaubt das Einregeln der parallelen  
Volumenströme ohne eine gegenseitige Beeinflussung der  
Trennungslinien über den Gesamtdruck. Außerdem wird  
hierbei der Gesamtvolumenstrom vollständig auf die ein-  
zelnen Trennlinien verteilt. Die Volumenstromwerte wer-  
den von Flussmessern in den einzelnen Trennungslinien  
17.1 - 17.8 erfaßt. Ein Gesamtdruckmesser 19 ermittelt  
den Druck ausgangsseitig der Pumpen 3 und 4. Das Ergeb-  
nis einer Quotientenbildung aus Gesamtdruck und aktuel-  
lem Volumenstromwert in der jeweiligen Trennlinie  
stellt für den Flussregler einen Istwert dar. Der  
Flussregler (z.B. Reglereinheit mit Ventil) 10 ver-  
gleicht diesen Istwert mit einem von der Auswerte- u.  
Steuereinheit 16 vorgegebenen Sollwert und regelt mit  
der berechneten Regeldifferenz somit indirekt den Volu-  
mentrom für die jeweilige Trennlinie 17.1 bis 17.8 ein.  
In einer bevorzugten Ausführung der Erfindung wird der  
Volumenstrom indirekt über den Druckabfall (Differenz-  
druck) an einer Meßkapillare ermittelt.

In Fig. 2 ist der Einregelungsprozeß für 4 parallele  
HPLC-Trennungslinien 17.1 bis 17.4 in einem Diagramm  
veranschaulicht. Nach dem Start der HPLC-Pumpen 3 und 4  
stellt sich in jeder der vier Trennungslinien 17.1 bis  
17.4 ein anderer Volumenstrom ein. Nach Einschalten der  
Flussregelung und Voreinstellung eines gemeinsamen  
Sollwertes herrscht nach einer kurzen Einschwingphase  
ein gleicher Volumenstroms in den Trennungslinien 17.1  
bis 17.4.

Zur Angleichung der Retentionszeiten wird eine geeigne-  
te Standardsubstanz gleichzeitig in alle Trennungslini-  
en 17 injiziert und die Retentionszeit mit Hilfe des

Multikanaldetektors 13) erfaßt. Über einen speziellen Algorithmus errechnet die Auswerte- u. Steuereinheit 16 daraus die nötigen Sollwerte und gibt diese an die Flussregelungseinheit weiter. Die Retentionszeiten der Standardsubstanz werden in regelmäßigen Abständen überprüft, um gegebenenfalls die Sollwerte nachzustellen. Vorteilhafterweise ermöglicht die Flussregelungseinheit auch eine Fehlererkennung. Über- oder unterschreitet der Stellwert des Flussreglers in einer Trennlinie 17 einen zulässigen Bereich, so wird sofort ein Systemfehler (z.B. verstopfte Säule bzw. Kapillare, Leck) erkannt und die betreffende Trennungslinie 17 wird herausgeschaltet. Die Auswerteeinheit 16 signalisiert eine entsprechende Fehlermeldung.

Die in Fig. 3 in der Perspektive dargestellte Schematik der Vorrichtung zeigt eine auf sechsundneunzig Chromatographiekanäle erweiterte Vorrichtung. Das multiparallele Probenaufnahmesystem 5 ermöglicht hier die gleichzeitige Aufnahme von 96 Proben.

Für semipräparative und präparative Anwendungen wird an die Chromatographiekanäle eine multiparallele Festphasenextraktionseinheit 23 und eine multiparallele Fraktionssammler gemäß Fig. 4 und 5 gekoppelt.

Gemäß Fig. 4 werden auf an sich bekannte Weise mittels eines multiparallelen Probeaufnahmesystemes 5, das beispielsweise als Autosampler ausgebildet sein kann, zehn Proben aufgenommen und den Trennsäulen 11.1 bis 11.10 zugeführt. Über ein Pumpsystem, bestehend aus den Pumpen 3 und 4 wird ein Lösungsmittelgemisch über einen Verteiler auf die hier dargestellten zehn Trennlinien 17.1 bis 17.10 gefördert. Zur Sicherstellung von gleichen Flüssen in allen Trennlinien 17.1 bis 17.10 sind

Flußregelungseinheiten, bestehend aus den Ventilen 10 und den Flußmessern 12 und, hier nicht dargestellt, ein Druckmesser 19 sowie ein entsprechender Rechner mit Flußregelungsprogramm angeordnet. Das Lösungsmittelge-  
5 misch wird in jeder Trennlinie 17.1 bis 17.10 über das Probenaufnahmesystem 5 geführt. Anschließend werden die Proben weiter zu den Trennsäulen 11.1 bis 11.10 zu einem parallelen Multikanaldetektor 13 geführt. Über eine Pumpe 21 wird auf allen Trennlinien 17.1 bis 17.10 Was-  
10 ser zugeführt, um die Polarität des Gemisches zu erhöhen und somit die Extraktion der Probenkomponenten auf der sich anschließenden Festphasenextraktionseinheit 23 zu ermöglichen. Die Festphasenextraktionseinheit 23 enthält hier pro Trennlinie 17.1 bis 17.10 sechs Frak-  
15 tioniersäulen.

In der Variante gemäß Fig. 5 sind in jeder der Trennlinien 17.1 bis 17.10 zwei Fraktioniersäulen in Kombination mit einem 10-Port-2-Positionsventil vorgesehen.  
20 Die Pumpe 22 dient zur Equilibrierung der Festphasenextraktionseinheit 23 zum Reinigen der Proben und schließlich zur Überführung der Proben in den Fraktionssammler 24.

## Bezugszeichenliste

|           |                   |              |                  |
|-----------|-------------------|--------------|------------------|
| 1.1 - 1.4 | Ventil            | 11.1 - 11.10 | Trennsäulen      |
|           | Laufmittel        |              |                  |
|           | Vorrat A          | 12           | Flussmesser      |
| 2.1 - 2.4 | Ventil            | 13           | Detektor         |
|           | Laufmittel        |              |                  |
|           | Vorrat B          | 14           | Abfall           |
| 3         | Pumpe             | 15           | Mikrotiterplatte |
| 4         | Pumpe             | 16           | Auswerte-        |
|           |                   |              | u. Steuereinheit |
| 5         | Probenaufnahme-   |              |                  |
|           | system            | 17.1 -17.10  | Trennungslinien  |
| 6         | Injektionsport    | 18           | Injektionssystem |
| 7         | Probenschleife    | 19           | Gesamt-          |
|           |                   |              | druckmesser      |
| 7.1-7.8   | Probenschleifen   |              |                  |
|           |                   | 20           | Verteiler        |
| 8         | Probenabfall      |              |                  |
| 9         | Injektionsventil  | 21           | Pumpe            |
| 9.1-9.8   | Injektionsventile |              |                  |
|           |                   | 22           | Pumpe            |
| 10        | Flussregler       |              |                  |
|           |                   | 23           | Festphasenex-    |
| 11        | Trennsäulen-      |              | traktionseinheit |
|           | batterie          |              | (23.1-23.10      |
|           |                   | 24           | Fraktionssammler |



**Patentansprüche**

- 5 1. Vorrichtung zur flüssigchromatographischen Trennung  
von Substanzen unter Druck,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß mindestens mehrere parallel verlaufend angeord-  
nete flüssigchromatographische Trennungslinien (17)  
10 von einer einzigen Fördereinheit (eine oder zwei  
Pumpen) versorgt werden und im Bereich der Proben-  
zuführung mit einem Probenaufgabensystem (5) und  
einem Injektionssystem (18) sowie im Detektionsbe-  
reich mit einem Detektor (13), verbunden mit einer  
15 Auswerte- u. Steuereinheit (16), kombiniert sind.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die flüssigchromatographischen Trennungslinien  
20 (17) Flussregelungseinheiten (10,12,12.1,19) auf-  
weisen.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2,  
dadurch gekennzeichnet,  
25 daß die Flussregelungseinheiten (10,12,19) aus  
Flussreglern (10), einem Gesamtdruckmesser (19) und  
Flussmessern (12) besteht.
4. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 3,  
30 dadurch gekennzeichnet,

daß die Flußregelungseinheiten (10,12,19) in jeder Trennungslinie (17) soft- und/oder hardwaremäßig steuerbar sind.

- 5        5. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 4,  
         dadurch gekennzeichnet,  
         daß Flussregler (10) und Flussmesser (12) in einer  
         Trennungslinie (17) an verschiedenen Orten angeord-  
         net sind.

- 10       6. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 5,  
         dadurch gekennzeichnet,  
         daß Flussregler (10) und Flussmesser (12) in den  
         Trennungslinien (17) kompakt an einem Ort angeord-  
15       net sind.

7. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 6,  
         dadurch gekennzeichnet,  
         daß die Flussregelungseinheit (10,12,19) vor  
20       oder hinter den Trennsäulen (11.1 - 11.8) angeord-  
         net ist.

8. Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 5,  
         dadurch gekennzeichnet,  
25       daß der Gesamtdruckmesser (19) ausgangsseitig den  
         Pumpen (3, 4) angeordnet ist.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8,  
30       dadurch gekennzeichnet,

daß das Probenaufnahmesystem (5) mit mindestens mehreren parallelen Probeaufnahmelinien über mindestens mehrere Injektionsports (6) und

Injektionsventile (9) und Probenschleifen (7) des multiparallelen Injektionssystems (18) mit mindestens mehreren Trennsäulen (11.1 - 11.8) verbunden sind, die mit einem Detektor (13) gekoppelt sind, der mindestens mehrere Bestimmungskanäle aufweist.

10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Trennsäulen (11.1 - 11.8) zu einer Trennsäulenbatterie (11) kompakt vereinigt sind.

11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10,

dadurch gekennzeichnet,

daß jedes Injektionsventil (9) vor den Trennsäulen (11.1 - 11.8) angeordnet ist.

12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11,

dadurch gekennzeichnet,

daß jedes Injektionsventil (9) als Mehrwegventil ausgebildet ist.

13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12,

dadurch gekennzeichnet,

daß jedes Injektionsventil (9.1-9.8) Schaltmöglichkeiten zu einem Injektionsport (6), zu einer Probenschleife (7), zu den Pumpen (3, 4), zu einem Abfall (8) und zu einer Trennsäule (11.1 - 11.8) aufweist.

14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13

dadurch gekennzeichnet,

5 daß die Trennungslinien (17.1-17.10) eine Trennsäule und eine Festphasenextraktionseinheit (13) aufweisen, die mit weiteren Pumpen (21, 22) gekoppelt ist.

15. Vorrichtung nach Anspruch 14 oder 15,

10 dadurch gekennzeichnet,

daß die flüssigchromatographischen Trennungslinien (17.1-17.10) Flussregelungseinheiten (10,12,19) aufweisen.

15 16. Vorrichtung nach Anspruch 14 oder 15,

dadurch gekennzeichnet, daß

17 im Endbereich der Festphasenextraktionseinheit (23) ein mit der Festphasenextraktionseinheit (23), der multiparallelen Fraktionsausgabeeinheit (24) und dem Abfall (14) eine Verbindung herstellbares Mehr-Wege-Ventil angeordnet ist.

17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 14 bis 16,

dadurch gekennzeichnet, daß

25 die Festphasenextraktionseinheiten (23) mindestens je zwei Fraktioniersäulen aufweisen.

18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 14 bis 17,

dadurch gekennzeichnet, daß

30 die Festphasenextraktionseinheiten (23) je zwischen 10 und 50 Fraktioniersäulen aufweisen.

19. Verfahren zur flüssigchromatographischen Trennung von Substanzen unter Druck,

dadurch gekennzeichnet,

5 daß mehrere zu trennende Proben gleichzeitig mindestens mehreren Trennsäulen (11) zugeführt werden und anschließend gleichzeitig und parallel eine Detektion und Auswahl erfolgt.

10 20. Verfahren nach Anspruch 19,

dadurch gekennzeichnet,

15 daß die Trennungslinien (17) bezüglich der Retentionszeiten mittels einer Kalibrierprobe kalibriert werden und nach Ermittlung der einzelnen Retentionszeiten durch Steuerung von Flussreglern (10) aufgrund von Daten von Flussmessern (12) und Ausgangsdruckmesser (19) für alle Proben die gleiche Retentionszeit eingestellt wird.

20 21. Verfahren nach Anspruch 20,

dadurch gekennzeichnet,

25 daß der Quotient aus Gesamtdruck und Volumenstrom der jeweiligen Trennlinie als Istwert für eine indirekte Regelung des Volumenstromes herangezogen wird.

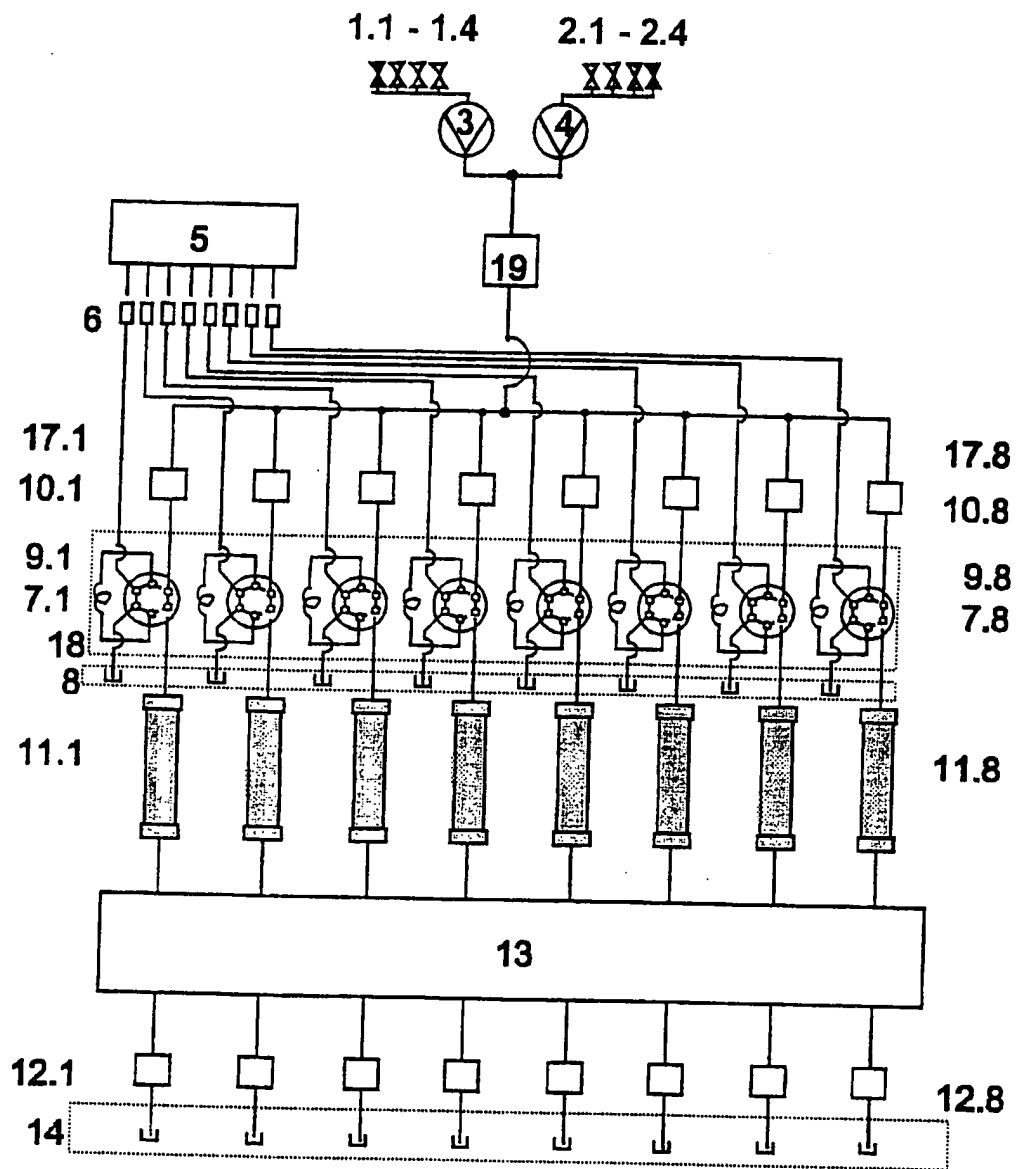


Fig. 1A

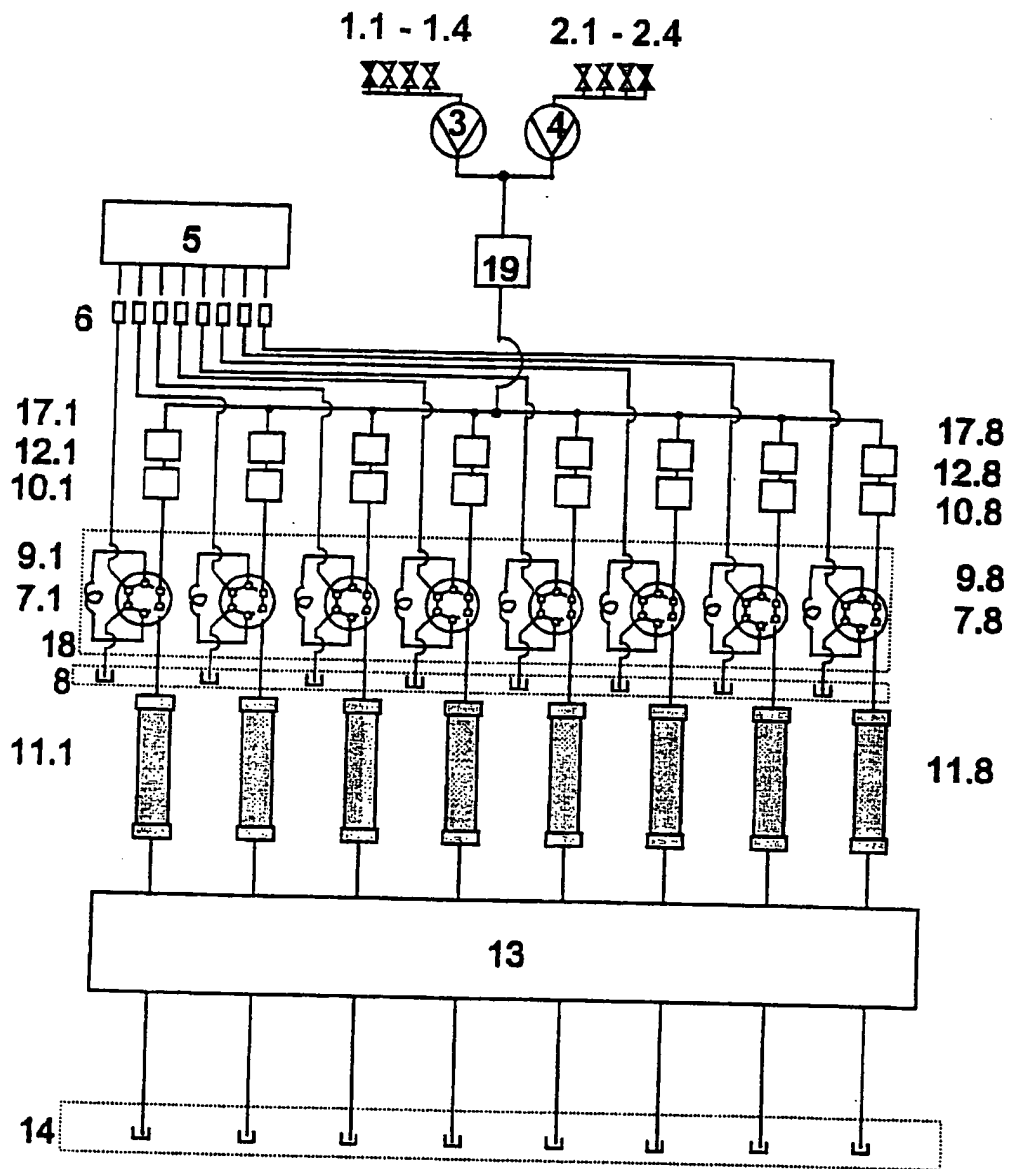


Fig. 1B

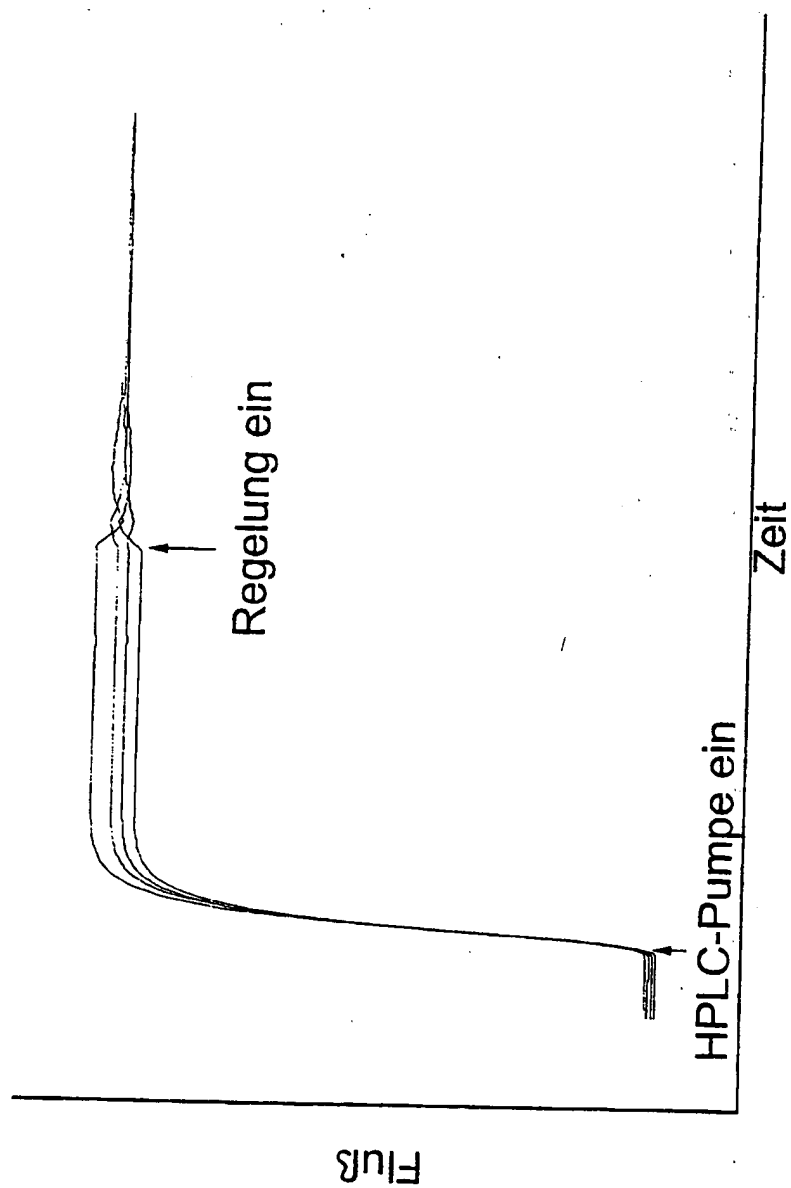


Fig. 2



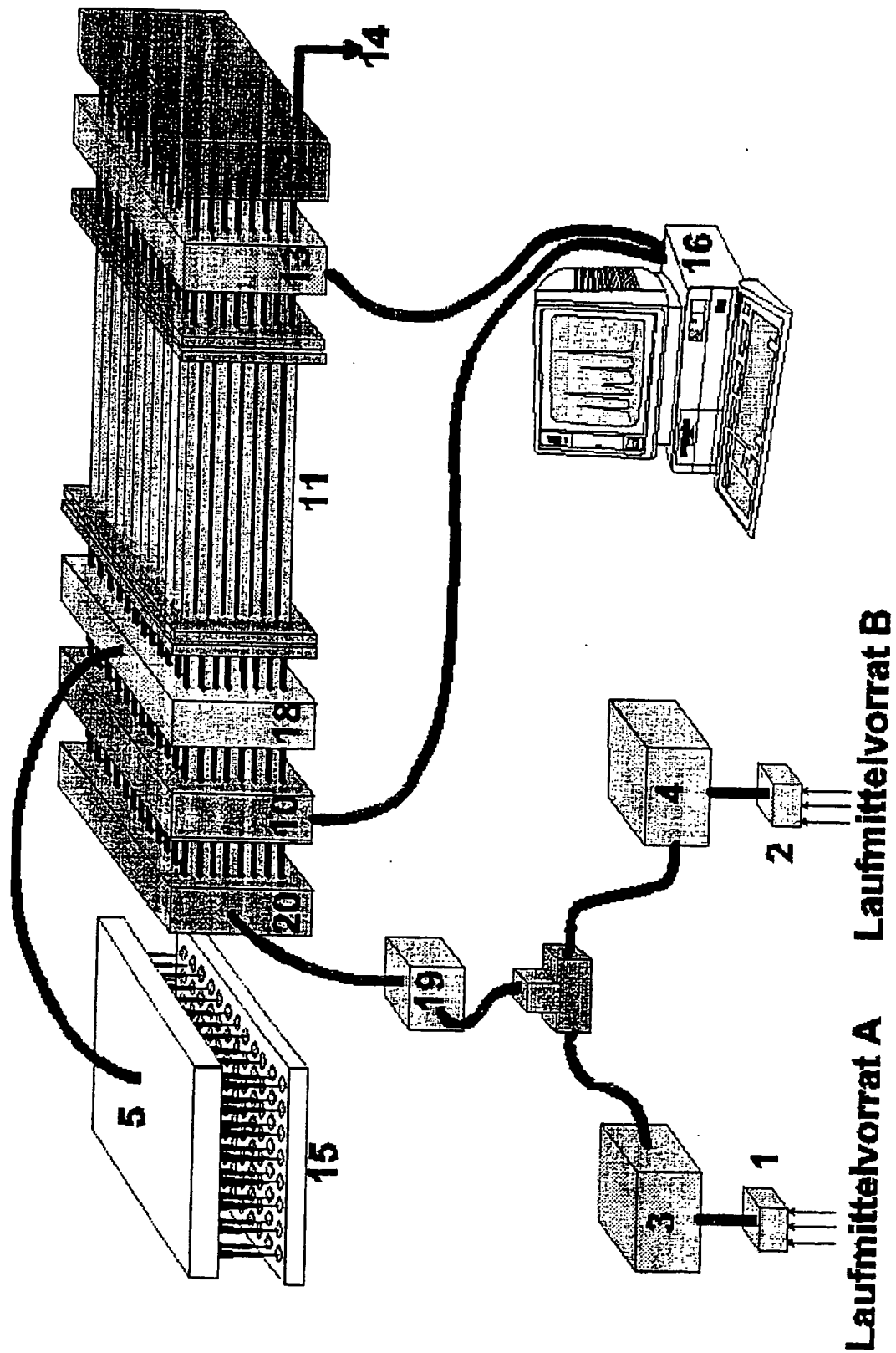


Fig. 3

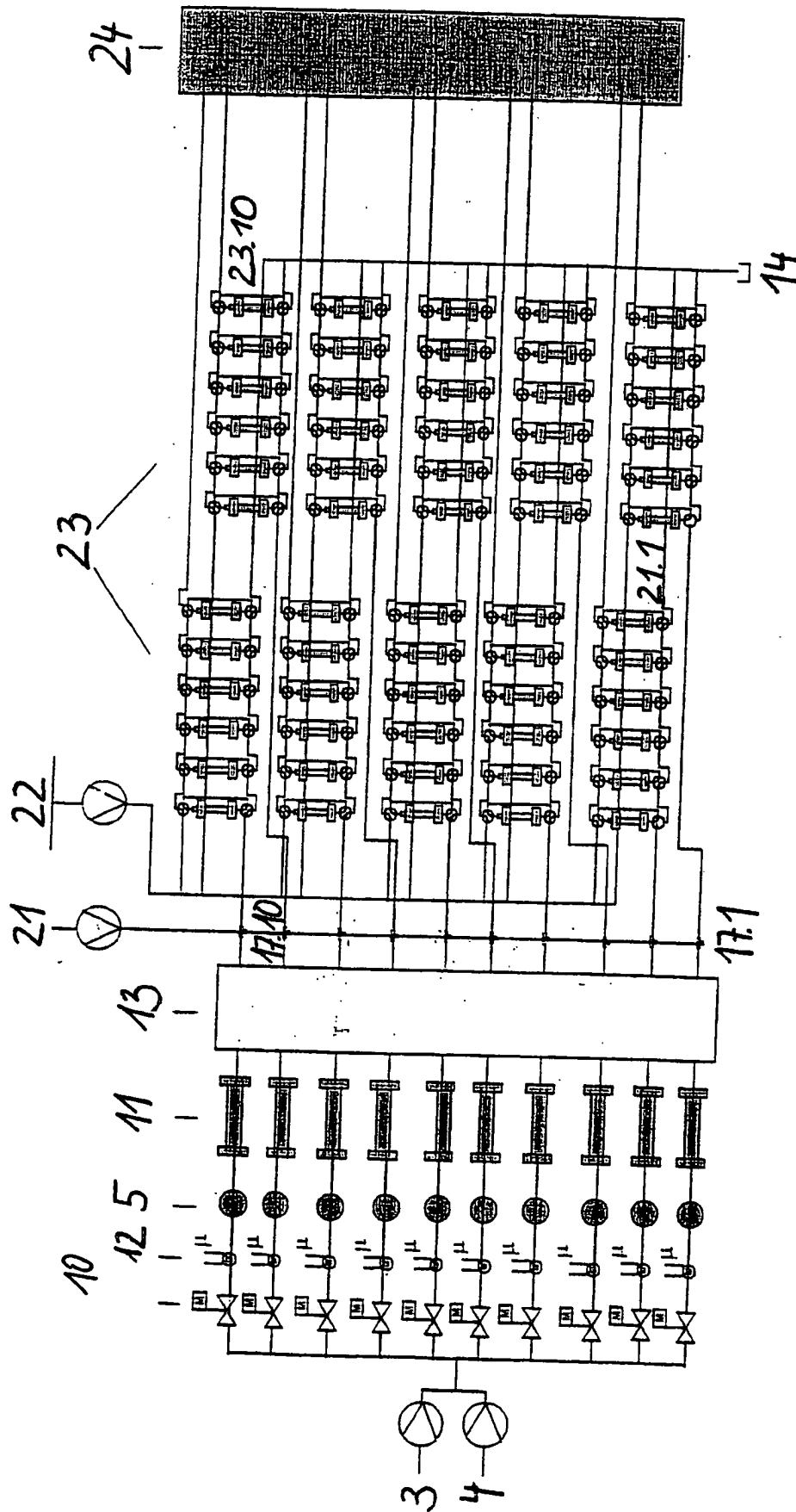


Fig. 4

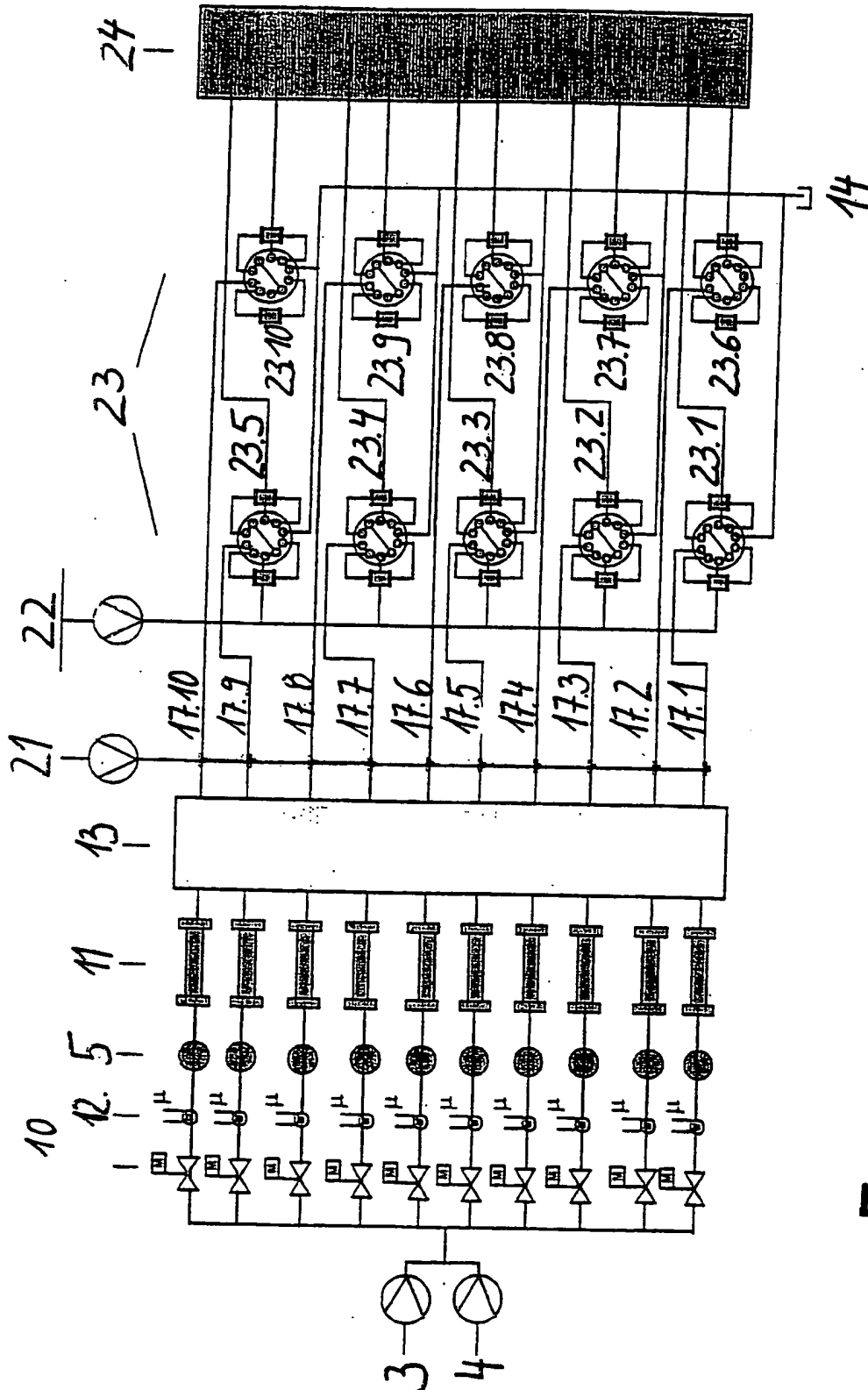


Fig. 5

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/09747

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 G01N30/46 B01D15/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G01N B01D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No.                            |
|------------|---|--|
| X          | US 5 198 115 A (STALLING DAVID L ET AL)<br>30 March 1993 (1993-03-30)   | 1-5, 7-9,<br>11, 12,<br>14, 15, 19<br>13, 16, 20 |
| A          | column 4, line 5-24<br>column 4, line 55 -column 5, line 14<br>column 5, line 51 -column 6, line 37<br>column 8, line 54 -column 9, line 58 |  |
| A          | US 3 922 223 A (BURKHARTSMEIER GARY L)<br>25 November 1975 (1975-11-25)   | 1  |
| A          | DE 196 41 210 A (ANALYTICON AG<br>BIOTECHNOLOGIE P)<br>2 April 1998 (1998-04-02)<br>cited in the application<br>abstract; figure 1          | 1  |
|            | -/-   |  |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 April 2000

Date of mailing of the international search report

14/04/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Zinngrebe, U

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/09747

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A          | <p>EP 0 275 933 A (JAPAN SPECTROSCOPI CO)<br/> 27 July 1988 (1988-07-27)<br/> page 4, line 15-26<br/> page 4, line 54 -page 5, line 10; figure 1<br/> <u>        </u></p> | 6                     |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/09747

| Patent document<br>cited in search report |   | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| US 5198115                                | A | 30-03-1993          | NONE                       |                     |
| US 3922223                                | A | 25-11-1975          | NONE                       |                     |
| DE 19641210                               | A | 02-04-1998          | WO 9813118 A               | 02-04-1998          |
|   |   |                     | EP 0946236 A               | 06-10-1999          |
| EP 0275933                                | A | 27-07-1988          | JP 8030989 B               | 27-03-1996          |
|   |   |                     | JP 63177209 A              | 21-07-1988          |
|   |   |                     | JP 1044847 A               | 17-02-1989          |
|   |   |                     | JP 1987559 C               | 08-11-1995          |
|   |   |                     | JP 7015458 B               | 22-02-1995          |
|   |   |                     | DE 3850786 D               | 01-09-1994          |
|   |   |                     | DE 3850786 T               | 12-01-1995          |
|   |   |                     | DE 3851763 D               | 10-11-1994          |
|   |   |                     | DE 3851763 T               | 02-03-1995          |
|   |   |                     | EP 0438184 A               | 24-07-1991          |
|   |   |                     | US 4984602 A               | 15-01-1991          |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/09747

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 G01N30/46 B01D15/08

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 G01N B01D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr.                         |
|------------|---|--|
| X          | US 5 198 115 A (STALLING DAVID L ET AL)<br>30. März 1993 (1993-03-30)   | 1-5,7-9,<br>11,12,<br>14,15,19<br>13,16,20 |
| A          | Spalte 4, Zeile 5-24<br>Spalte 4, Zeile 55 -Spalte 5, Zeile 14<br>Spalte 5, Zeile 51 -Spalte 6, Zeile 37<br>Spalte 8, Zeile 54 -Spalte 9, Zeile 58<br>--- |  |
| A          | US 3 922 223 A (BURKHARTSMEIER GARY L)<br>25. November 1975 (1975-11-25)<br>---   | 1  |
| A          | DE 196 41 210 A (ANALYTICON AG<br>BIOTECHNOLOGIE P)<br>2. April 1998 (1998-04-02)<br>in der Anmeldung erwähnt<br>Zusammenfassung; Abbildung 1<br>---      | 1  |
|            | -/-   |  |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

3. April 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

14/04/2000

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Zinngrebe, U

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/09747

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| A          | <p>EP 0 275 933 A (JAPAN SPECTROSCOPI CO)<br/> 27. Juli 1988 (1988-07-27)<br/> Seite 4, Zeile 15-26<br/> Seite 4, Zeile 54 -Seite 5, Zeile 10;<br/> Abbildung 1</p> <p style="text-align: center;">-----</p> | 6                  |



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/09747

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument |   | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie |            | Datum der<br>Veröffentlichung |
|--|---|-------------------------------|-----------------------------------|------------|-------------------------------|
| US 5198115   | A | 30-03-1993                    | KEINE                             |            |                               |
| US 3922223   | A | 25-11-1975                    | KEINE                             |            |                               |
| DE 19641210  | A | 02-04-1998                    | WO                                | 9813118 A  | 02-04-1998                    |
|  |   |                               | EP                                | 0946236 A  | 06-10-1999                    |
| EP 0275933   | A | 27-07-1988                    | JP                                | 8030989 B  | 27-03-1996                    |
|  |   |                               | JP                                | 63177209 A | 21-07-1988                    |
|  |   |                               | JP                                | 1044847 A  | 17-02-1989                    |
|  |   |                               | JP                                | 1987559 C  | 08-11-1995                    |
|  |   |                               | JP                                | 7015458 B  | 22-02-1995                    |
|  |   |                               | DE                                | 3850786 D  | 01-09-1994                    |
|  |   |                               | DE                                | 3850786 T  | 12-01-1995                    |
|  |   |                               | DE                                | 3851763 D  | 10-11-1994                    |
|  |   |                               | DE                                | 3851763 T  | 02-03-1995                    |
|  |   |                               | EP                                | 0438184 A  | 24-07-1991                    |
|  |   |                               | US                                | 4984602 A  | 15-01-1991                    |

